Istituto di Clinica chirurgica della R. Università di Napoli
Prof. D' ANTONA

SULLA STAFILOLISINA

Ricerche Sperimentali
del

D.r ROCCO CAMINITI

Estratto dalla *Riforma Medica*
N.° 40 1904

VILLA SAN GIOVANNI (Calabria)
TIP. GIUSEPPE MOSCATO
Via Nazionale n. 173
1904

Sebbene sia sconosciuta nella sua intima costituzione chimica la sostanza o le sostanze che a somiglianza di altri microorganismi producono gli stafilococchi, pure è ormai da tutti riconosciuto che molti fenomeni morbosi, che si osservano congiunti alle infezioni piogeniche generali e locali, sono dovuti alla penetrazione di queste sostanze ed alla loro azione nell' organismo umano.

E poichè la più gran parte delle infezioni piogeniche sono dovute ai piogeni propriamente detti, e queste d' altro canto sono così frequenti o in una forma o nell' altra, era naturale che la mente dei patologi e dei batteriologi massimamente si affaticasse intorno ad un tale argomento in tutti i tempi, sebbene con quelle vedute e con quei criteri che la portata scientifica delle varie epoche consentiva.

Difatti le prime idee, verso il principio della seconda metà del secolo, furono che le infezioni putride e la purulenta fossero dovute a sostanze putride o al pus penetrati nel sangue. Tra i molti sperimentatori in questo senso vanno ricordati il *Panum* il quale cercò di isolare il principio chimico, ed il *Bergmann* che credette di essere giunto nel 1868 alla esatta dimostrazione di ciò colla

sepsina da lui isolata.

Simili tentativi sopra la via analoga delle sostanze chimiche fecero *Sèdillot* e *Beck, Weber, Billroth, Frèse* colle ineizioni di pus semplice o filtrato nelle vene degli animali e *Virchow* colle esperienze rimaste classiche, partendo tutti dalla idea che il pus potesse esser la causa della infezione purulenta.

A questo primo periodo di ricerche poco fortunate seguì, come ognun sa, l'altro della ricerca cioè degli agenti vivi; e dal *Klebs*, da *Coze et Fetze*, dai classici lavori di *Koch,* dal *Bordoni Uffreduzzi*, dal *Foà*, dall' *Orth* dal *Pasteur* dal *Rosenbach* dal *Garrè* fu tutta una serie di lavori che condussero allo accertamento degli agenti specifici.

Ma quì non si fermarono le ricerche, e si cercò di vedere più oltre; si sperimentò cioè colle culture sterilizzate a mezzo del calore da *Gianturco* e *d' Urso,* da *Nannotti,* per vedere se alle sostanze costituenti il corpo dei microorganismi potessero imputarsi le alterazioni morbose che si osservano nelle infezioni da piogeni.

Per i continui e notevoli progressi della batteriologia e per lo studio dei fenomeni vitali dei singoli agenti patogeni, era naturale che, mano mano approfondendo le conoscenze, venissero in chiaro tutti o almeno molti dei più oscuri fenomeni della biologia e della patologia dei microorganismi. Si vide chiaramente così, tra l'altro, che moltissimi fatti delle infezioni erano dovute non al

batterio in sè ma ai prodotti del ricambio materiale di questi agenti — *tossine* —; prodotti che per molti bacilli, col perfezionarsi appunto della tecnica batteriologica moderna furono isolati e studiati nella loro composizione chimica e nei loro effetti.

Uno di questi effetti si vide esplicarsi perniciosamente sul sangue alterando i corpuscoli di esso o dissolvendoli.

Proseguendo sulla intricatissima via e cercando di portare luce nell' oscuro fenomeno servendosi di quanto gli autori avevano con sottili analisi chiarito nella emolisi dei sieri sanguigni normali o di animali preparati mercè le iniezioni preventive di sangue di altri animali, si vide che il fenomeno era dovuto ad una speciale sostanza velenosa segregata dai microorganismi e contenuta nel brodo delle culture.

Essa, a somiglianza dell' analoga sostanza dei sieri normali, fu chiamata *emolisina*, e, per distinguerla da questa, *batterioemolisina.*

Ma se facile ed agevole è il constatare il fenomeno nei suoi effetti ultimi specialmente in vitro, la *emolisi cioè,* non è egualmente facile il comprendere l' intricato meccanismo per cui la emolisi avviene.

Certo la migliore interpetrazione e la più convincente pare quella di *Ehrlich* che oggi tiene il campo.

Per ben comprendere un tale meccanismo di azione di queste sostanze appunto, credo utile pre-

mettere, riassumendole in breve, le idee di *Ehrlich* che vanno sotto il nome di *Seitenkettentheorie*.

Ehrlich in base a una lunga serie di studi, che qui non è il caso di ricordare, fatti specialmente sui prodotti del bacillo difterico, concepí il protoslasma cellulare come diviso in tanti gruppi d'atomi, che egli chiamò catene laterali, che servono alle funzioni della cellula, principalmente alla nutritiva e alle quali si unirebbero in una sintesi chimica i gruppi atomici delle sostanze nutritive o delle tossiche. — Le catene laterali che si sono unite alle sostanze nutritive verrebbero utilizzate per il nutrimento; quelle unitesi alle tossiche andrebbero perdute.

Stabilì poi che le sostanze nutritive, i prodotti tossici dei batteri, tossine, tossoni ecc. — risultano di due gruppi: un *gruppo aptoforo* più stabile e che lega il veleno alla cellula dissolvibile, e un *gruppo tossoforo* che si altera facilmente e che è essenzialmente fermentativo e dissolvente.

Nel siero poi degli animali esiste, tra i molti, un corpo — *l' alessina* o *citasi*, o *complemento* o *protettore naturale*, ed un altro che non esiste preformato lo *zwischenkorper* (*immunkörper*, ambocettore, fissatore, sostanza sensibilizzatrice), ma che si formerebbe come effetto della reazione che si produce nell'organismo per la penetrazione del siero eterogeneo, della tossina, ecc. ecc.

Ora tanto nelle emolisi che si producono per sieri eterogenei quanto in quelle che si producono per

prodotti di microorganismi, alle **catene laterali** del globulo rosso o batterio, va ad unirsi **un gruppo** dello ambocettore sensibilizzando così la cellula anzidetta (corpuscolo rosso o batterio), rendendola atta cioè ad essere attaccata dall' alessina a cui si lega, secondo *Ehrlich*, l' altro gruppo del fissatore.

Nel caso che si tratti di emolisi per batterio emolisine un gruppo dell' ambocettore si fissa al gruppo aptoforo della tossina, mentre l' altro si unisce alle catene laterali del globulo rosso; la molecola della tossina, così legata al globulo rosso, lascia agire il suo gruppo tossoforo, rimasto libero e che ha potere zimotico, per cui avviene la dissoluzione del globulo rosso.

La mancanza dei ricettori costituisce la immunità naturale.

Le catene laterali per questa proprietà di ricevere il gruppo dell' ambocettore furono da Ehrlich chiamate " *ricettori* " e questa facoltà della cellula " *ricettività* ".

Questi ricettori combinati o distrutti possono venire rigenerati dalla cellula (*Weigert*). Talvolta per circostanze varie si riproducono in tanta abbondanza che non trovano più posto entro il protoplasma cellulare, e sono versati nel torrente circolatorio. Queste catene laterali " *ricettori* " circolanti liberamente sarebbero le antitossine del siero sanguigno, che serviranno a neutralizzare le tossine.

Iniettando i filtrati delle culture batteriche non è solo tossina che s' inietta; vale a dire *Ehrlich*

trovò per il bacillo difterico, e *Madsen, Neisser et Wechsberg* per altri batteri, che essi, oltre la tossina, segregano un altro veleno — il *tossone* — di costituzione analoga alla prima (1).

La *tossina* però sarebbe più labile chimicamente, ma piú avida per l' antitossina; il *tossone* sarebbe invece più stabile, ma meno attivo della tossina e con minore affinità per l' antitossina. Sperimentando egli trovò che data p. e. una determinata quantità di antitossina, bastevole a neutralizzare una data quantità di tossina, unendo p. e. un decimo di antitossina con un decimo di tossina dovrebbe avvenire la completa neutralizzazione; così per il 2.°, per il 3.° decimo e cosi via. *Ehrlich* vide invece che nel fatto non è così e che la proporzione non regge; e allora pensò che il primo decimo di antitossina andò a neutralizzare solo una parte dei gruppi aptofori del primo decimo di tossina e una parte dei gruppi aptofori del secondo decimo, del terzo, del quarto ecc. — Conchiuse quindi che tutti i gruppi aptofori della tossina non hanno eguale avidità o ricettività per l' antitossina, ma alcuni di più ed altri di meno, ed al-

---

(1) *Nota. Eisenberg, Danysz* e *Bordet* non riconoscono nel tossone una sostanza diversa dalla tossina, ma la stessa tossina nella cui molecola essi ammettono molti gruppi aptofori, a differenza di Ehrlich che ne ammette un solo. Il tossone, secondo i predetti autori, sarebbe uno stato della tossina in cui alcuni dei detti gruppi aptofori sarebbero già stati neutralizzati.

tri di meno ancora. Lo stesso fatto avendo osservato per il *tossone* stabilì che *tossina e tossone* risultano alla loro volta del miscuglio di tre sostanze, cioè: *prototossina* costituita da quei gruppi aptofori che hanno la massima avidità; *deuterotossina* da quelli che ne hanno meno; *tritotossina* da quelli che ne hanno meno ancora. Analogamente *prototossone, deuterotossone, e tritotossone.*

Il *tossone* della tossina difterica p. e. agisce alterando in modo specifico, non necrotizzando o uccidendo acutamente come la tossina; il *tossone* p. e. della tetanotossina agisce sciogliendo i globuli rossi del coniglio, ma quelli soltanto che sono meno resistenti, cosichè per una grande quantità di *tossone* mai potrebbero essere disciolti tutti i globuli rossi del coniglio.

Puó avvenire inoltre che la molecola della tossina per influssi diversi subisca un' alterazione, un' attenuazione cioè ed allora quello che si altera è appunto il gruppo più instabile della molecola cioè il gruppo tossoforo o zimotossico; l' alterazione o la distruzione di esso fa si che la molecola della tossina non sia più velenosa.

Per questo indebolimento della tossina fu detto che la tossina si muta in *tossoide*, che sarebbe tossina che ha perduto il gruppo zimotossico e perciò di azione più debole; e poichè vi è una *proto* — una *deutero* — ed una *tritotossina*, vi sarà, un *prototossoide* un *deuterotossoide* un *tritotossoide*; modificazioni queste delle rispettive tossine, che hanno qua-

si eguale avidità per l'antitossina, ma che non sono di eguale potere tossico.

Questi concetti fondamentali di Ehrlich furono avvalorati ed ampliati in seguito dallo stesso *Ehrlich* e da una schiera di suoi allievi, più di tutto da *Morgenroth* e da *Madsen.*

Richiamata così l' attenzione ed aperto un nuovo campo, innumerevoli furono in esso le ricerche e sotto ogni aspetto importanti coordinandosi l' importante fenomeno dell' emolisi al più importante problema della immunità generale e della immunità batterica piú specialmente, ed è qui da ricordare come in Italia notevoli contributi, tra gli altri, siano venuti dal Prof. Pane.

Le emolisine batteriche sarebbero quindi sostanze chimiche che agiscono sul sangue in modo deleterio come le emolisine dei sieri.

Esse attaccano quella specie di ricettori che sono i globuli rossi, a cui si unisce un gruppo dell' ambocettore o fissatore, mentre dall' altra parte l'altro gruppo del fissatore si unisce al gruppo aptoforo della lisina batterica, facendo così che il gruppo *tossoforo* o *zimotossico* agisca alterando il globulo.

Le sostanze emolitiche da una somma di studi si sa che sono molteplici, e della più diversa natura. Cosi vi sono sostanze emolitiche di origine vegetale p. e. ricina, abrina ecc.; sostanze emolitiche appartenenti al regno minerale (farmaci della più diversa natura); sostanze emolitiche di ori-

gine animale (veleno dei serpenti, siero di anguilla); sostanze emolitiche dei succhi di tessuti normali e patologici, dei liquidi normali e patologici *(Pagniez)*; e finalmente sostanze emolitiche prodotte dal ricambio materiale dei batteri *emolisine batteriche* o *batterioemolisine.*

Per l' indole di questo lavoro non posso nemmeno accennare a tutta la mole, non piccola, di lavori esistenti sulla emolisi, di cui si possono trovare notevoli riviste nel lavoro di *London* in quelli di *Bordet*, nel *Lubarsch's Ergebnisse* e in quelli dello stesso Ehrlich.

Invece fermeremo la nostra considerazione a questa ultima categoria di emolisine, che è la più importante e che presenta il maggiore interesse per la patologia umana cioè alle batterioemolisine.

Osservato il fenomeno da *Koch* e da *Bitter* a proposito del kommabacillo ma meglio visto da *Ehrlich* nello studio della tetanotossina, fu subito ripreso e studiato di proposito da *Madsen* colla tetanotossina stessa, e da *Ehrlich* e *Morgenroth* colla difterotossina. Dopo di loro gli studi si generalizzarono.

Kraus e *Clairmont* estesero le ricerche ad altre specie di microorganismi: il vibrione del colera; il colibacillo; il bacillo difterico; il bacillo piocianeo; il bacillo del tifo; gli stafilococchi; gli strepetococchi; i protei, e conclusero che molti microorganismi producono veleni emolitici, la cui presenza ed intensità varierebbe però a secondo i varî campioni di

uno stesso microorganismo.
Bulloch e Hunter, Weingeroff, Breymann, Lubenau studiarono particolarmente i prodotti del bacillo piocianeo dal punto di vista della emolisi; *Kayser* la colilisina; *Schwonen* una emolisina del bacillo di Löffler; i due *Levy* descrissero una emolisina del bacillo del tifo; *Montella* del diplococco di Fränkel *Bajardi* degli stafilococchi e dei micrococchi candicans ed aurantiacus; *Pane* dello pneumococco; *Lubenau* del micrococco tetragono; *Besredka, Pane, Lubenau, von Lingelskeim* degli strepetococchi; *Eykmann* del vibrione colerico.

Ma per l' argomento che c' interessa più specialmente noi dobbiamo ricordare gli studi precedenti di *Fränkel* sulla tossialbumina delle culture degli stafilococchi di *Mosny et Marcano* che studiarono coi filtrati dell'aureo le lesioni da essi prodotti negli animali e videro come queste lesioni servano di fissazione ai microbi contentenuti normalmente nell' intestino; di *Rodet e Courmont* colle culture filtrate come colle sterilizzate; di *Van de Velde* che trovò nei filtrati degli stafilococchi un veleno pei leucociti che egli chiamó *leucocidina* ed in seguito vide pure che i veleni degli stafilococchi alteravano, oltre dei corpuscoli bianchi, anche gli ematoblasti del midollo osseo ed alcune cellule nervose.

Seguirono a queste ricerche quelle di *Kraus*, sopra citate, di *von Lingelsheim*, di *Lubenau*, di *Baiardi* di *Neisser et Wechsberg*, di *van Durme*

ed un contributo clinico di *Perez.*

Le ricerche più importanti sull' argomento però furono quelle di *Neisser et Wechsberg.* Questi autori in un pregevole e minuto lavoro studiarono i prodotti delle culture filtrate degli stafilococchi sul sangue e trovarono la presenza di un attiva emolisina che studiarono in tutte le modalità, oltre la presenza di un veleno per i lencociti come già prima l' aveva bene costatato *van de Velde.*

In base alle loro esperienze ed osservazioni *Neisser et Wechsberg* conchiusero che il tipico stafilococco piogene aureo ed il tipico piogene albo producono costantemente due specie di veleni del sangue: una *emolisina* ed una *lencocidina* che sono due sostanze indipendenti e con caratteri diversi ma che strettamente bisogna considerare come *tossine,* e quindi gli stafilococchi piogeni producono veleni solubili.

A questo importante lavoro seguí quello di *van Durme,* il quale, adottando la tecnica di Neisser e Wechsberg, studiò l' argomento servendosi di campioni di piogeni tolti da lesioni suppurative recenti, o da mezzi innocui (superficie del corpo, cavità orale normale, polvere di camera ecc.).

Egli potè sicuramente conchiudere che quegli stafilococchi i quali non producono emolisina non sono agenti di suppurazione; inoltre, raffrontando i campioni di albo con quelli di aureo (quelli cioè che producevano emolisina) vide che, analogamente alla minore capacità patogena, riconosciuta del-

l' albo, corrispondeva una minore forza emolitica.

A questo punto a me parve che lo studio di questo ultimo quesito, se cioè esistesse di fatto relazione tra il potere patogeno e la forza emolitica dei piogeni, potesse essere d' importanza e potesse farsi per una diversa via, poichè non mi pareva scevra di obbiezioni la via battuta da *van Durme.*

Avendo avuto l' opportunità, in occasione di altri miei studi, di isolare uno *stafilococco piogeno albo* di bassissima virulenza, che dovetti tenere in vita e coltivare per lungo tempo, ho potuto avere periodi netti di diversa virulenza nella vita del microorganismo.

Mi parve che la quistione fosse da studiare meglio in questa direzione.

Per ogni periodo di virulenza determinata, feci delle culture in brodo in matracci di *Erlemeger* che, secondo le indicazioni di Neisser e Wechsberg, tenni alla stufa dai dieci ai sedici giorni. Altri matracci, come si vedrà in seguito, furono tenuti per 25 - 30 giorni. Poi filtrando allo Chamberland, senza però raggiungere mai alte pressioni, raccoglievo il filtrato in matracci sterili. - Dirò subito che da questi filtrati trapiantati per prova su varii terreni nutritivi mai ottenni sviluppo di microorganismi.

Il filtrato, seguendo la tecnica di Neisser e Wechsberg, veniva addizionato del 5°[o della soluzione fenica indicata dai predetti autori, e poi distribuito in 10 piccole provette sterili in quantità

decrescenti da 1 cmc. a 0,005.

A ciascun tubo aggiungevo tanta soluzione fisiologica 0,85°[0 di Cloruro di sodio, quanta occorreva per portare la quantità del tubo a 2 cmc. Allora faceva cadere in ogni tubo una goccia di sangue defibrinato di coniglio e scuotevo leggermente il tubo per assicurare la perfetta mescolanza del contenuto.

Per ogni esperimento si faceva un tubò controllo cioè: in un eguale tubo da saggio mettevo 2 cmc. di soluzione fisiologica 0,85°[0 addizionata previamente del 5°[0 della soluzione fenica, e poi vi faceva cadere una goccia dello stesso sangue defibrato.

Tutti i tubi venivano posti al termostato a 37.° per due ore, e per tutta la notte in ghiacciaia.

L'osservazione si faceva al microscopio nel modo ordinario ed a goccia pendente.

Le esperienze furono più di quelle riferite nelle seguenti tavole, ma per ragione di brevità ne ho tralasciate alcune, che per risultati identici ad altre riferite, mi parvero inutili affatto.

Nota Diremo *dissoluzione completa* quando non si riscontrano più globuli rossi conservati e tutti furono alterati in un modo o nell'altro.

Dissoluzione parziale quando la più gran parte dei globuli rossi fu alterata; ma una porzione tra 1/3 e 1/4 sono ancora normali.

Dissoluzione minima quando soltanto pochi globuli rossi sono alterati mentre la più gran parte è conservata.

Nessuna dissoluzione quando tutti i corpuscoli rossi sono conservati.

TABELLA I.

Cultura di 16 giorni proveniente dal coniglio N. 6 inoculato colla originaria e morto in 6 giorni.		
Tubi con stafilolisina 1	Grado della dissoluzione 2	Tubo controllo 3
1 cmc.	Dissoluzione completa	Corpuscoli rossi perfettamente conservati
0, 75	» »	
0, 50	» »	
0, 25	Nessuna dissoluzione	
0, 10	» »	
0, 07	» »	
0, 05	» »	
0, 01	» »	
0, 007	» »	
0, 005	» »	

TABELLA II.

Cultura di 12 giorni proveniente dal coniglio N. 14 iniettato colla originaria e morto in 8 giorni		
1	2	3
1 cmc.	Dissoluzione completa	Corpuscoli rossi perfettamente conservati
0, 75	» »	
0, 50	Dissoluzione parziale	
0, 25	Nessuna dissoluzione	
0, 10	» »	
0, 07	» »	
0, 05	» »	
0, 01	» »	
0, 007	» »	
0, 005	» »	

TABELLA III.

Cultura di 14 giorni proveniente dal coniglio N. 14 inoculato con cultura originaria e morto in otto giorni.		
1	2	3
1 cmc.	Dissoluzione completa	Corpuscoli rossi perfettamente conservati
0, 75	» »	
0, 50	» »	
0, 25	Dissoluzione parziale	
0, 10	» »	
0, 07	» »	
0, 05	» »	
0, 01	» »	
0, 007	» »	
0, 005	» »	

TABELLA IV.

Cultura di 12 giorni proveniente dalla originaria ricoltivata per un certo tempo in agar e brodo.		
1	2	3
1 cmc.	Dissoluzione completa	Corpuscoli rossi perfettamente conservati
0, 75	» »	
0, 50	» »	
0, 25	Dissoluzione parziale	
0, 10	» »	
0, 07	» »	
0, 05	Nessuna dissoluzione	
0, 01	» »	
0, 007	» »	
0, 005	» »	

TABELLA V.

Cultura di 12 giorni proveniente dal coniglio N. 21 inoculato con cultura del coniglio 14 e morto in giorni 3¼

1	2	3
1 cmc.	Dissoluzione completa	Corpuscoli rossi perfettamente conservati
0, 75	» »	
0, 50	» »	
0, 25	» »	
0, 10	Nessuna dissoluzione	
0, 07	» »	
0, 05	» »	
0, 01	» »	
0, 007	» »	
0, 005	« »	

TABELLA VI.

Cultura di 12 giorni proveniente dal coniglio N. 24 inoculato con cultura proveniente dal coniglio N. 3 e morto in giorni 2½

1	2	3
1 cmc.	Dissoluzione completa	Corpuscoli rossi completamente conservati
0, 75	» »	
0, 50	» »	
0, 25	» »	
0, 10	Dissoluzione parziale	
0, 07	» »	
0, 05	,, ,,	
0, 01	Nessuna dissoluzione	
0, 007	,, ,,	
0, 005	,, ,,	

TABELLA VII.

Cultura di 11 giorni proveniente del coniglio N. 10 inoculato con cultura di 2 giorni proveniente dal coniglio N. 6 e morto in giorni 5 1/2		
1	2	3
1 cmc.	Dissoluzione completa	Corpuscoli rossi perfettamente conservati
0, 75	„ „	
0, 50	„ „	
0, 25	„ „	
0, 10	Dissoluzione parziale	
0, 07	„ „	
0, 05	„ „	
0, 01	Nessuna dissoluzione	
0, 007	„ „	
0, 005	„ „	

TABELLA VIII.

Cultura di 13 giorni proveniente dal coniglio N. 31 inoculato con cultura del N. 6 e morto in 48 ore		
1	2	3
1 cmc.	Dissoluzione completa	Globuli rossi perfettamente conservati
0, 75	„ „	
0, 50	„ „	
0, 25	„ „	
0, 10	„ „	
0, 07	Nessuna dissoluzione	
0, 05	„ „	
0, 01	„ „	
0, 007	„ „	
0, 005	„ „	

TABELLA IX

Cultura di 14 giorni proveniente dal coniglio N. 23 inoculato con culture del coniglio N. 3 e morto in 18 ore		
1	2	3
1 cmc.	Dissoluzione completa	Corpuscoli rossi perfettamente conservati
0, 75	„ „	
0, 50	„ „	
0, 25	„ „	
0, 10	„ „	
0, 07	„ „	
0, 05	Dissoluzione parziale	
0, 01	„ „	
0, 007	Nessuna dissoluzione	
0, 005	„ „	

TABELLA X.

Cultura di 29 giorni proveniente dalla originaria.		
1	2	3
1 cmc.	Dissoluzione Completa	Corpuscoli Rossi perfettamente conservati
0, 75	„ „	
0, 50	„ „	
0, 25	„ „	
0, 10	„ „	
0, 07	„ „	
0, 05	Dissoluzione parziale	
0, 01	„ „	
0, 007	„ „	
0, 005	„ „	

TABELLA XI

Riassunto delle tabelle precedenti.

N. d' ordine delle tabelle	Provenienza della cultura filtrata	Provenienza dello stafilococco inoculato al coniglio della colonna precedente	Età della cultura filtrata	Limiti della emolisi
1	Dal coniglio 6 morto in 6 giorni	dalla originarìa	16 giorni	0, 25
2	dal 14 m. in 8 g.	dalla originaria	12 giorni	0, 25
3	dal 14 « « « «	dalla originaria	14 giorni	0, 25 parz.
4	dall' originaria ricoltivata		12 giorni	0, 25 parz
5	dal 21 m. in 3 1/2 g.	dal coniglio 14	11 giorni	0, 10
6	dal 24 m. in 2 1/2 g.	dal coniglio 3	12 giorni	0, 10 parz
7	dal 10 m. in 5 1/2 g.	dal coniglio 6	11 giorni	0, 10 parz.
8	dal 13 m. in 48 ore	dal coniglio 31	13 giorni	0,07
9	dal 23 m. in 18 ore	dal coniglio 3	14 giorni	0, 007
10	dall' originaria ricoltivata		29 giorni	in tutti i tubi

TABELLA XII.

RIASSUNTO DELLA PRECEDENTE

PASSAGGI	GIORNI VISSUTI DAL CONIGLIO	LIMITI DELLA EMOLISI
uno	6	0, 25
uno	7	0, 25
uno	8	0, 25 parziale
originaria	. . . . . .	. . . .
due	3 ½	0, 10
due	2 ½	0, 10 parz.
due	5 ½	0, 10 parz.
due	48 ore	0, 07
due	18 ore	0, 007
originaria	29	tutti i tubi.

Nota - Dall' esame di tutti i tubi mi pare che un' osservazione sorga spontanea.

Per *emolisi* s' intende ordinariamente la fuoruscita dell' emoglobina dal globulo rosso. Questa definizione suppone la integrità del protoplasma o discoplasma, ma non mi pare una tale comprensione molto esatta.

Il globulo rosso per la fuoruscita completa dell'emoglobina è condannato a disfarsi; ora nel concetto di emolisi questa dissoluzione del globulo rigorosamente non entra. D' altra parte nel fenomeno dell' emolisi, da me studiato, non sempre, anzi rarissimamente, le cose procedettero così lisce; cioè il globulo abbandonò prima la emoglobina ed apparve il discoplasma isolato per poi piano piano dissolversi anch' esso.

Sempre nei tubi, contenuti le maggiori quantitá di stafilolisina, i globuli erano ridotti in detriti, non avevano subìto il processo anzidetto, del precedente abbandono cioè dell' emoglobina. Il fatto era pure indiziato dal colore esterno del tubo, perchè in questi tubi il colore era nerastro torbido a differenza degli ultimi tubi contenenti dosi piccole di stafilolisina dove il colorito esterno era sempre rosso ciliegia, e l' osservazione microscopica dimostrava il liquido tinto in rosso e i globuli rossi o sbiaditi per parziale dissoluzione di emoglobina, o ridotti a stromi in cui della emoglobina non esisteva traccia.

Mi pare quindi che al nome di *emolisi*, troppo ristretto, debba essere sostituito quello più generale di *globulolisi*, restando la emolisi ad indicare una fase di questa; o pure, allargando il concetto di emolisi, debba includersi quello del disfacimento dei globuli rossi con tutte le varie modalità, una delle quali e quella che tante volte il globulo si scioglie in detriti senza che perda precedentemente la sua emoglobina.

* *
*

Le considerazioni a cui danno luogo le precedenti tabelle sono le seguenti.

Prima d'ogni altro dalle mie esperienze appare che il campione provato, in tutte le prove mostrò potere emolitico. Va ricordato a questo proposito che tutti le culture provenivano da suppurazione umana come i N.i 1, 2, 3, 4, 10, o sperimentali come gli altri numeri.

Dai miei studi appaiono comprovati i risultati di *Neisser et Wechsberg e di van Durme* nelle linee generali; e solo qualche piccola differenza si è rilevata.

Prima di ogni altro posso anch' io affermare che la stafilolisina nelle culture in brodo degli stafilococchi cresce dal 10.° giorno; non avendo filtrato culture di un minor numero di giorni, per non essermi proposto questo quesito, non ho ricercato il limite del primo apparire della stafilolisina nelle culture. Ciò mostrarono particolarmente i N.i 2 e 3 provenienti dall' *identico germe*: la cultura del N.° 2 filtrata di 12 giorni a 0, 25 non dava alcuna dissoluzione, mentre la cultura del N.° 3 filtrata di 14 giorni a 0,25 dava dissoluzione parziale, ed anche un pò i N.i 6 e 9, sebbene qui entrino altri fattori (peso dell' animale, quantità della iniezione ec.).

Però le mie esperienze contraddicono ai risultati di *Neisser et Wechsberg* in quanto al limite opposto poichè i predetti autori videro che dopo il 14.° giorno la stafilolisina diminuisce nelle culture. A me ciò non è risultato e la tabella X, che rappresenta uno soltanto di tre concordi esperimenti, lo dimostra chiaramente, poichè dopo 29 giorni non solo conservava il potere emolitico, ma pure, provenendo dalla originaria come i N.i 1, 2, 3, mostrò in confronto di queste culture, accrescimento della forza emolitica.

Appare dalle mie esperienze inoltre che la forza emolitica fu più attiva quando il germe da cui fu preso il materiale delle culture aveva subito di recente due passaggi nel coniglio invece di uno o di nessuno, e quindi aveva

rinforzata la sua virulenza.

Si vede infine dalla tabella XII come la emolisi sia variata col variare della virulenza e, avendo presente il fatto già in principio, stabilito che cioè i campioni provenivano da culture di varia e nota virulenza dello stafilococco, **si vede bene come la emolisi stia in rapporto diretto della virulenza del germe.**

Ringrazio il mio illustre Maestro Prof. d'Antona per i mezzi concessimi, e i consigli datimi.

BIBLIOGRAFIA

Bard. Du diagnostic par l' hèmatolyse de la nature cancereuse des pleuresies et des peritonites hèmorragiques. — Presse mèdic. 1901 n. 15.

Bajardi. Sulla presenza di proprietà emolitiche nei filtrati di brodo-culture degli stafilococchi piogeni e dei micrococchi candicans ed aurantiacus resi piogeni — Ann. d' igiene sperim. 1901. fas. III.

Baumgarten. Mikrosk. Unters. über Hämolyse in eterog. Serum. — Deut. med. Woch. 1901.

Belfanti e Carbone. Produzione di sostanze tossiche nel siero di animali inoculati con sangue eterogeneo. Gior. R. Acc. med. di Torino 1898, n. 8.

Besredka. Les antihèmolysines naturelles — Ann. Pasteur 1901. T. 15.

Besredka. De l' hèmolysine streptococcique. — Ann. Past. 1901 T. 15

Bordet. Sur l' agglutination et la dissolution des globules rouges par le serum d' animaux injectès de sang defibrinè. — Ann. Pasteur 1898 T. 12.

Bordet. Les sèrums hèmolytiques, leurs antitoxines, et les theories des serum cytolitiques — Ann. de Pasteur 1900. T. 14.

Breymann . Ueber Stoffwechselprodukte des Bak. pyocyaneus. — Centr. f. Bak. 1902. Bd. 31.

Brieger und Fränkel. — Berliner klin. Woch. 1890.

Buchner. Untersuch. über die bakterienfeindlichen Wirchungen des Blutes ecc. — Arch. f. Hyg.

1890 Bd. 10.

Buchner. Weitere Unters. über die Bakterienfeindlichen und globuliciden Wirckung des Blutserum. Arch. f. Hyg. 1893 Bd. 17.

Buchner. Zur Kentinns der Alexine sowie spezif. baktericiden und specif. hämol. Wirckungen — Münch. med. Woch. 1890, n. 9.

Buchner. Sind Alexine einfache oder komplexe Körper? — Berl. klin. Woch. 1901. n. 33.

Bulloch. Ueber Beziehung zwischen Hämolysis nud Bakteriolysis — Centr. f. Bak. 1901.

Bulloch und Hunter. Ueber Pyocyanolysin ecc. — Centr. f. Bak. Bd. 28 1900.

Calmette. Centribution à l' ètude du venin des serpents — Ann. Past. 1894.

Camus et Gley. Nouvelles rechèrches sur l'immunitè contre le sérum d' anguille — Ann. Past. 1899.

Camus et Pagniez. Propriètès hemolysantes du serum humain — Semaine mèd., 1902, mai.

Cantacuzène. Variations quantitatives et qualitatives des globules rouges provoquèes chez le lapin par les injections du sérum hèmolytique — Ann. Pasteur 1900.

Daremberg. De l' action destructive du sèrum du sang sur les globules rouges — Arch. de Med. esp. 1891.

Delezenne. Action du suc pancreatique et du suc intestinal sur les hematies — C. R. Soc. de Biologie 1903.

Ehrlich und Morgenroth. Zur Theorie der Lysinwirchung — Berl. klin. woch. 1899, n. 1. D.° Ueber Hämolysine. — Berl. klin woch. 1899 n.° 22 *Idem.* 1900, n.° 21 *Idem.* 1900. n.° 31 *Idem.* 1901. n.° 10 Idem. 1901. n.° 21 e 22.

Ehrlich P. Die Seitenkettentheorie und ihre Gegner. — Munch. med. woch. 1901. n.° 52.

Ehrlich P. und. Sachs Ueber Mekanismus der Amboceptorenwirchumg. — Berl. klin woch. 1902 n.° 21.

Eykmann C. Ueber die Permeabilität der roten Blutkörperchen — Pfluger's Arch. 1897 Bd. 68.

Fisch C. Contribution of our knowledge of hemolysins. St. Louis 1900. *D°.* Studies about agglutinins. — St. Louis 1902.

Gengou Cytase hèmolitique — Ann. Past. 1901.

Gruber M. Zur theorie der Antikörper. II. Ueber Bakteriolyse und Hämolyse. — Munch. med. woch. 1901 n. 48 e 49.

Kayser A. Ueber Bakterienhämolysin in besonderen das Colilysin. — Zeit. f. Hyg. 1903.

Klein A. Ueber den Einfluss von Organextrakten auf rote Blutkörperchen sowie auf die Erscheinung der Agglutination u. Hämolyse. — Wien. klin. woch. 1901 n. 52.

Korschum und Morgenroth. Ueber die hämolytische Eigenschaften von Organenextrakten. — Berl. klin. woch. 1902. n. 37.

Kraus und Clairmont. Ueber Hämolysine und Antihämolysine. — Wien. klin woch. 1900, n. 3.

D°. Ueber Bakteriohämolysine und Antihämolysine. — wien. klin. woch. 1901.

Kraus und Ludwig St. Ueber Bakteriohämolysine und Antihämolysine. — wien. klin. woch. 1902. N. 15.

Krompecher. Injection du sang de grenouille au lapin (hèmolyse totale). — Centr. f. Bak. 1900.

Labbè. Action comparèe des microbes et des toxines microbiennes sur le sang dèfibrinè. — C. R. Soc Biol. 1903.

Levy E. und P. Levy. Ueber Hämolysin des Typhusbacillus. — Centr. f. Bak. Bd. 30 1901.

von. Lingelsheim W. Aetiologie und Therapie der Staphylokokkeninfectionen. — Berl. Wien. 1900.

London E. S. Contribution à l' ètude des hèmolysines. — Arch. de Scien. Biol. de l' Inst. imp. de med. exp. a St. Petersbourg T. VIII. n. 3 e 4 1901.

Lubenau. Hämolytische Fahigkeit einzelner pathogenen Schizomyceten. — Cent. f. Bakt. Bd. 30. 1901.

Madsen. Ueber Tetanolysin. — Zeits. f. Hyg. Bd. 32. 1899.

Maragliano D. Beitrag zur Pathologie des Blutes. — Berl. klin. woch. 1892.

Markl. Ueber Hammung durch Salze. — Zeit. f. Hyg. Bd. 39 1902.

Meltzer S. T. Hâmolysin. — Medical Record. 1901.

Mètalnikoff. Ueber hâmolitysches Serum dur-

ch Blutfütterung. — Centr. f. Bak Bd. 29 1901.

Metschnikoff et Besredka. Recherches sur l' action de l' hèmotoxine sur l' homme. — Ann. Pasteur T. 14 1900.

F. Micheli e M. Donati. Emolisi da succhi dei tumori. — Riforma medica 1903, n.° 38.

Montella C. Azione dei filtrati delle brodoculture di diplococco sugli eritrociti del coniglio e de cane. — Ann. d' Igiene sperimentale 1901.

Mosny et Marcano. De l' action de la tossine du staphylocoque pyogene. — La semaine mèd. 1894. p. 544.

Nannotti. Sur le pouvoir pathogène des produits des staphylocoques. — Ann. de Micrographie 1891 Ottobre.

Neisser E. und Döring H. Zur Kenntnis der hämolityschen Eigenschaften des menschlichen Serums. — Berl. klin, woch. 1901.

Neisser und Wechsberg. Ueber das Staphylotoxin. — Zeit. f. Hyg. Bd. 36. 1901.

Noguchi Hideyo. A study of immunization hemolisins, agglutinins, precipitins and coagulins in coldsblooded animals. — University of Pensilvania med. Bull. 1902, n.° 9.

Nolf. Le mecanisme de la globulolisi. — Ann. Pasteur 1900.

Pagniez. Action exercèe sur les globules rouges par quelques liquides normaux et pathologiques de l' organisme. — Thèse de Paris 1902.

Rodet et Courmont. Produits du staphylocoque

pyogène

La Bulletin medical 1892 p. 84

Rodet et Coumont. Substances solubles du stalocoque pyogène. — Rèvue de mèd. 1893 - 94.

Schütze et Scheller. Experim. Beitrag zur Kenntnis in normalen Serum vorkommenden globuliciden Substanzen. — Zeit. f. Hyg. 1901.

Shibayama A. Einige Experimente über Hámolysine. — Centr. f. Bak. Bd. 30 1901.

I. *Schwonen.* Ueber die hâmolytische Wirchung des Löfflerschen Bacillus. — Centr. f. Bak., Bd. 35.

Strauss und. Wolff Ueber das hâmolytische Verhalten seröser Flussigkeiten. — Forts. der Med. 1902, n. 1 e n. 7.

Swellengrebel. Ueber Toxone. — Cent. f. Bak. Bd. 35.

Tarassèvitch. Sur les cytases. — Ann. Pasteur 1902.

Todd. Experimental hámoglobinurie caused by a bacterial toxin. — The Lancet 1901.

van Dürme. Ueber Staphylokokken und Staphylolisin. Hygienische Rundschau, Bd. 13, n. 2.

van de Velde. Etude sur le mècanisme de la virulence du staphylocoque pyogène. — La cellule T. X. e T. IX e T. XI.

Wassermann. Hámolysine, Cytotoxine und Prácipitine. — Volkmanans Sammlung klin Vortrâge n.° 331, 1902.

Weingeroff. Zur Kenntnis des Hámolysins des

Bacillus pyocyaneus. — Centr. f. Bakt. 1901.
Wendelstaadt Ueber die Vielheit der Amboceptoren und Komplemente bei Hâmolyse, — Centr. f. Bakt. 1902.